



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ – UESPI
BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRONÔMICA
CAMPUS CERRADO DO ALTO PARNAÍBA-CCAP



DAVI MESQUITA TEIXEIRA

**GENES FLANQUEADOS POR MICROSSATÉLITES EM FEIJOEIRO COMUM
(*Phaseolus vulgaris* L.) RELACIONADOS AS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS
DA CULTURA**

URUÇUÍ
2024

DAVI MESQUITA TEIXEIRA

GENES FLANQUEADOS POR MICROSSATÉLITES EM FEIJOEIRO COMUM
(Phaseolus vulgaris L.) **RELACIONADOS AS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS**
DA CULTURA

Monografia apresentada à Universidade Estadual do Piauí, Campus Cerrado do Alto Parnaíba, como parte das exigências para obtenção do título de “Bacharelado em Engenharia Agrônômica”.

Área de concentração: Genética

Orientadora: Prof. Dra. Ariadna Faria Vieira

URUÇUI
2024

DAVI MESQUITA TEIXEIRA

GENES FLANQUEADOS POR MICROSSATÉLITES EM FEIJOEIRO COMUM
(Phaseolus vulgaris L.) **RELACIONADOS AS CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS**
DA CULTURA

Monografia apresentada à Universidade Estadual do Piauí, como parte das exigências para obtenção do título de “Bacharelado em Engenharia Agrônômica”.

Área de concentração: Melhoramento de Plantas

Orientador(a): Prof. Dra. Ariadna Faria Vieira

APROVADA: ____/____/2024

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Ariadna Faria Vieira
UESPI/CCAP

Prof. Dr. Francisco de Assis Gomes Júnior
UESPI/CCAP

Prof. Dr. Fabrício Custódio de Moura Gonçalves
UESPI/CCAP

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha imensa gratidão a Deus por conceder-me foco e determinação para alcançar meus objetivos, assim como força e sabedoria para lidar com as dificuldades diárias. Sou profundamente grato aos meus pais, Dalma Mesquita Costa e Gildeci Teixeira Rosa, e minha irmã, Gabriela Mesquita Teixeira, por dedicarem todos os esforços possíveis para me apoiar financeiramente ao longo desses 5 anos de jornada rumo à tão sonhada graduação.

Não posso deixar de mencionar minha companheira de vida, Tauane Fonseca de Sousa, por seu constante apoio na realização de nossos sonhos em conjunto. Expresso também minha sincera gratidão a todo o corpo docente da Universidade Estadual do Piauí, Campus Cerrado do Alto do Parnaíba, pelo incansável empenho em formar excelentes profissionais, mesmo diante das limitações estruturais. Em especial, desejo agradecer minha orientadora, professora doutora Ariadna Faria Vieira, por me guiar não apenas neste trabalho, mas também no Projeto de Iniciação à Pesquisa Científica, proporcionando-me uma experiência singular em minha vida.

RESUMO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura de leguminosas amplamente cultivada, desempenhando um papel crucial na segurança alimentar global. A produção significativa no Brasil destaca sua importância econômica e social, especialmente na agricultura familiar. O melhoramento genético é essencial para aprimorar características como resistência a doenças e tolerância a déficit hídrico. Esse trabalho teve como objetivo a utilização de sete marcadores microssatélites para a identificação de genes flanqueados relacionados a características agronômicas, utilizando o banco de dados genômicos Phytozome. Os objetivos incluíram a identificação de transcritos e das sequências genômicas. O trabalho foi conduzido *in silico*, com os marcadores microssatélites previamente identificados na literatura. Os resultados mostraram que dois marcadores, PV35 e X57022, flanquearam genes de interesses, proporcionando a possibilidade de estudos mais aprofundados sobre variação genética. O gene Phvul.007G199100, associado à proteína fosfatase 2C, foi identificado e caracterizado. Esses resultados contribuem para o avanço do conhecimento sobre o feijoeiro comum, oferecendo dados valiosos para futuras pesquisas em melhoramento genético.

Palavras-chave: Leguminosas, melhoramento genético, marcadores microssatélites, Phytozome

ABSTRACT

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a widely cultivated legume crop, playing a crucial role in global food security. Significant production in Brazil highlights its economic and social importance, especially in family farming. Genetic improvement is essential to improve characteristics such as disease resistance and tolerance to water deficit. This work aimed to use seven microsatellite markers to identify flanking genes related to agronomic traits, using the Phytozome genomic database. The objectives included the identification of transcripts and genomic sequences. The work was conducted *in silico*, using microsatellite markers previously identified in the literature. The results showed that two markers, PV35 and X57022, flanked genes of interest, providing the possibility of more in-depth studies on genetic variation. The gene Phvul.007G199100, associated with protein phosphatase 2C, was identified and characterized. These results contribute to the advancement of knowledge about common bean, offering valuable data for future research into genetic improvement.

Keywords: Common bean, genetic improvement, microsatellite markers, Phytozome

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação do <i>Phytozome</i> , para os BLASTs das sequências dos marcadores microssatélites	14
Figura 2. Identificação da posição do gene Phvul.007G199100 no banco de dados genômicos.....	17
Figura 3. Identificação da posição do gene Phvul.004G064800 no banco de dados genômicos.....	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Microssatélites caracterizados para feijão comum, onde serão buscados os genes flanqueados.....	14
Tabela 2. Informações genômicas do gene Phvul.007G199100	16
Tabela 3. Informações genômicas do gene Phvul.004G064800.....	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral.....	10
2.2 Objetivos específicos	10
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
3.1 O Panorama geral da cultura do feijão	11
3.2 Melhoramento para a cultura do feijoeiro	12
3.3 A utilização de marcadores microssatélites na cultura do feijoeiro.....	13
4 MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Local de execução do projeto.....	13
4.2 Marcadores microssatélites e análises <i>in silico</i> do feijoeiro	14
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
6 CONCLUSÃO.....	19
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

1 INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das principais culturas de leguminosas alimentícias do mundo, rico em proteína, fibra, vitaminas e minerais desempenhando um papel fundamental na segurança alimentar e nutricional de muitas pessoas. O feijoeiro comum é nativo das Américas, mais especificamente das regiões da América Central e América do Sul. Atualmente, o feijoeiro comum é cultivado em diferentes países, desde os trópicos até as regiões temperadas, com destaque para o Brasil, Índia, China, Indonésia, México e Estados Unidos. Em nosso país o consumo *per capita* do feijoeiro comum chega a 142,2 g/dia (IBGE, 2017).

Em termos de características botânicas, o feijoeiro comum é uma planta anual que pertence à família Fabaceae. Suas vagens variam em cor, tamanho e forma, dependendo da variedade cultivada. Existem duas categorias principais de feijoeiro comum: feijões de grão (como o feijão-preto, feijão-carioca e feijão-vermelho) e feijões de vagem (como a vagem verde e a vagem amarela).

No Brasil é produzido aproximadamente 2.269.861 t de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em 1.551.323 ha (EMBRAPA, 2021). Essa produção se dá pelo seu alto consumo no mercado interno e sua variabilidade genética que possibilita boa adaptação as mais diversas variações climáticas encontradas no território nacional. O cultivo do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) geralmente é feito em três safras nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste, já na região Nordeste o feijoeiro comum é produzido em duas safras (período das “águas” e “seca”), cultivado em sua grande maioria em áreas abertas alcançando a produção de 141.615 t em 266.182 ha (EMBRAPA, 2021). O feijoeiro comum possui uma grande importância econômica e social, desempenha um papel crucial na agricultura familiar e na subsistência de pequenos agricultores em muitos países em desenvolvimento. A produção de feijão atua também de forma significativa na economia global, gerando empregos e renda.

A seleção de plantas está diretamente ligada a agricultura moderna e sustentável onde os aspectos socioeconômicos e geológicos associados com a preservação ambiental são indispensáveis para uma estratégia no aumento de produção.

As pesquisas de o melhoramento genético do feijoeiro no Brasil se concentram nas estatais do setor público e universidades. Os primeiros programas tiveram início em 1930 porem apresentaram atividade expressivas somente em 1970 (VOYSEST, 2000). O melhoramento genético no feijoeiro comum busca o desenvolvimento e aprimoramento na sua

morfologia e características agronômicas como: resistência a doenças e pragas e tolerância a déficit hídrico, assim melhorando seu manejo e produtividade.

A principal etapa no melhoramento do feijoeiro está no método a ser avaliado onde em sua grande parte é feito uma combinação de várias técnicas, entre os melhoristas se destaca o método genealógico, seleção massal, retrocruzamento, seleção recorrente, desentende de uma única semente (SSD) e hibridação (TSUTSUMI *et al.*, 2015).

No processo seletivo, os marcadores genéticos podem ser utilizados como ferramenta auxiliar do processo de melhoramento da análise de características quantitativa, como a produção de grãos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). O uso de microssatélites como marcadores polimórficos de DNA tem aumentado consideravelmente tanto no número de estudos quanto no número de organismos, principalmente para mapeamento genético (BHARGAVA; FUENTES, 2010).

Dessa forma os marcadores microssatélites podem ser peça chave na informação de polimorfismo ligados as características quantitativas levando posteriormente a realização de seleção assistida por marcadores (SAM) (PEREIRA *et al.*, 2007). Isso tem como objetivo reduzir o tempo e aumentar a eficiência no processo de genotipagem com características desejáveis. Por tanto busca-se selecionar marcadores microssatélites do feijoeiro comum, avaliá-los através de bancos de dados tendo em visto suas características quantitativas agronômicas de interesse da cultura.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Identificar os genes flanqueados por marcadores microssatélites em feijoeiro comum relacionados a caracteres agronômicos de interesse.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar os transcritos dos genes
- Identificar a sequência genômica e cosing sequence (CDS)

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O Panorama geral da cultura do feijão

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma leguminosa que faz parte da família Fabaceae, é base na alimenta da população de vários países é um dos mais importantes grãos para a alimentação humana, devido ser fonte de proteínas e de aminoácidos essenciais (TSUTSUMI *et al.*, 2015) tornando-se um dos grãos mais produzidos no mundo.

O feijoeiro-comum é a espécie mais cultivada entre as demais do gênero *Phaseolus*. Considerando-se, porém, diversos gêneros e espécies, é cultivado em 121 países em todo o mundo (BARBOSA; GONZAGA, 2012) no que se refere cultivares o feijão comum (*P. vulgaris*) e o feijão-fava (*P. lunatus*) são as espécies cultivadas mais importantes do gênero *Phaseolus* (ALMEIDA, C.; PEDROSA-HARAND, 2013). A produção mundial do feijoeiro como em 2019 girou em torno de 28.914.808 t os principais produtores mundiais de feijão são: Mianmar, Índia, Brasil, China, Tanzânia, Uganda, Estados Unidos, México, Quênia e Burundi (FAOSTAT, 2021), no Brasil a produção da safra 2021 girou em torno de 594.972 (EMBRAPA, 2021) acreditando no crescimento dessa cultura é constante onde o consumo de feijão no Brasil foi de 2,84 milhões de toneladas em 2019, e com previsão de crescimento de 3,6% a.a., estima-se para 2025 cerca de 3,48 milhões de toneladas, já o maior produtor a Índia a produção de feijão foi de 6,82 milhões de toneladas em 2019, com projeção para 8,31 milhões de toneladas em 2025, crescimento de 3,8% a.a. no período (MORDOR INTELLIGENCE, 2020).

O cultivo do feijoeiro comum é feito em todo território nacional tanto por grandes produtos como por pequenos produtores onde é adotado diferentes técnica de produção de acordo com cada região (MOURA; BRITO, 2015) a praticidade do feijoeiro suas características técnicas, agrônômicas e culturais credenciam a cultura do feijoeiro como excelente alternativa de exploração agrícola para pequenas propriedades (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

São grandes as exigências nutricionais do feijoeiro sendo indispensável a disponibilidade de nutriente em local e tempo adequados onde a adubação foliar é adotada de forma alternativa para um fornecimento eficiente (ROSOLEM *et al.*, 1990).

O grande desafio para evolução dessa cultura é a dispersão e a ainda vulnerável organização da cadeia produtiva do feijão comum têm dificultado a prospecção de demandas de pesquisa (P&D) e de transferência tecnológica (TT) no Brasil, restringindo a obtenção e a complementaridade de informações (BARBOSA; GONZAGA, 2012).

3.2 Melhoramento para a cultura do feijoeiro

O melhoramento genético do feijoeiro tem o objetivo de conhecer os problemas da região visando a obtenção de novas cultivares de feijoeiro-comum mais produtivas, menos sensíveis aos estresses bióticos e abióticos, e com características que atendam ao mercado consumidor como cor, tamanho, brilho escurecimento pós colheita e tempo de cozimento, tem-se constituído, ao longo dos anos, em desafio contínuo dos programas de melhoramento genético (MELO *et al.*, 2007), no Brasil os programas de melhoramento do feijoeiro-comum visam obter cultivares que associem alta produtividade de grãos a fenótipos favoráveis também para outros caracteres de interesse agrônomo e de mercado (MENDES *et al.*, 2009). A variabilidade genética existente no Brasil, não se encontram apenas nos grandes bancos de germoplasma, mas sim, nas posse dos produtores rurais, que naturalmente selecionaram as características desejáveis a eles, garantido a adaptação a cada tipo de cultivo (TSUTSUMI *et al.*, 2015).

O método mais utilizado para identificação de genitores tem sido por meio de avaliação morfológica, agrônoma e marcadores moleculares permitem caracterizar e determinar a divergência genética existente dentro e entre as espécies vegetais (BONETT *et al.*, 2006) portanto sendo indispensável o estudo e conhecimento de variabilidade genética disponível entre as cultivares crioulas e cultivares melhoradas.

Na literatura se encontra trabalhos baseados nas informações de genética e características que ajudam os melhoristas na tomada de decisão sobre o método a ser utilizado no seu trabalho e comumente se encontram variâncias, sendo a maioria com a geração F₂ e retrocruzamentos (TEIXEIRA *et al.*, 1999) e cruzamentos dialélicos (OTUBO *et al.*, 1995; SANTOS, 1984). Além dos métodos convencionais de melhoramento de plantas as etapas de seleção envolvendo plantas autógamas, a seleção assistida por marcadores moleculares e o melhoramento populacional via seleção recorrente, vem sendo utilizada de forma eficiente e eficaz (MELO, 2009).

3.3 A utilização de marcadores microssatélites na cultura do feijoeiro

De acordo com a definição, marcadores moleculares são todo e qualquer fenótipo molecular, que tem origem de um gene expresso ou de uma região específica do genoma do DNA (FERREIRA; GRATAPLAGIA, 1998). Possuem grande utilização em análises genéticas nos mais distintos estudos, tais como no melhoramento genético (PRASANNA *et al.*, 2010), caracterização genética entre cultivares de várias espécies (SILVA *et al.*, 2011) e caracterização do germoplasma (SANTOS *et al.*, 2013). Os marcadores microssatélites,

também denominados de SSR (*Simple Sequence Repeats*) são classificados como codominantes, alta frequência no genoma, multialélicos e com alto nível de polimorfismo (RAI *et al.*, 2013). *Primers* que flanqueiam sequências SSR geralmente são desenhados a partir da construção de bibliotecas genômicas, bibliotecas genômicas enriquecidas, sequências depositadas em bancos de dados e, alternativamente, a partir de sequências internas simples repetidas (ISSR)

Os marcadores moleculares são utilizados em diversos trabalhos, mas no cultivo do feijoeiro comum é utilizado para o controle de caráter de interesse como produção de grão, cor, tamanho, acamamento de plantas entre outros quesitos, por se tratar de uma cultura anual a seleção deve ser realizada nas primeiras gerações segregantes, para possibilitar que, desde o início, os esforços estejam dirigidos na avaliação das melhores famílias, com economia de tempo e recursos (PEREIRA *et al.*, 2008).

A utilização de marcadores microssatélites, também conhecidos como SSRs (*Simple Sequence Repeats*), tem sido amplamente aplicada no estudo do genoma do feijoeiro comum. Os marcadores microssatélites consistem em sequências curtas de DNA repetitivas que podem variar em número de repetições entre os indivíduos, o que permite a identificação de polimorfismos genéticos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de execução do projeto

O projeto foi realizado na Universidade Estadual do Piauí (UESPI) no *campus* Cerrado do Alto do Parnaíba na cidade de Uruçuí-PI. O genoma do feijoeiro comum utilizado para análises está depositado no banco de dados *Phytozome* (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) (Figura 1). Este trabalho foi desenvolvido *in silico*, com a utilização de marcadores microssatélites previamente identificados na literatura como associados a caracteres de interesse para a cultura do feijoeiro.

Figura 1- Representação do *Phytozome*, para os BLASTs das sequências dos marcadores microsatélites

Phytozome, the Plant Comparative Genomics portal of the Department of Energy's Joint Genome Institute, provides JGI users and the broader plant science community a hub for accessing, visualizing and analyzing JGI-sequenced plant genomes, as well as selected genomes and datasets that have been sequenced elsewhere. By integrating this large collection of plant genomes into a single resource and performing comprehensive and uniform annotation and analyses, Phytozome facilitates accurate and insightful comparative genomics studies.

4.2 Marcadores microsatélites e análises *in silico* do feijoeiro

Foram utilizados sete marcadores microsatélites listados na literatura como associados a características agrônômicas, citados por (COUTO *et al.*, 2010) (Tabela 1).

Tabela 1. Microsatélites caracterizados para feijão comum.

O trabalho foi realizado em duas etapas distintas, sendo todas elas *in silico*, utilizando o banco de dados genômicos. A primeira etapa consistiu na relação e dos possíveis genes flanqueados e/ou próximos em distância física dos marcadores moleculares. Para que ocorra

Marcador	Sequência (5' – 3')
PV35	F: TCTACGCGTTCCTCTGTCT R: AGTGGATGTGTGGGAAAAGC
PV67	F: TGAGCCATATATTTTTCTCACTCTT R: ATGGGCATGGTGGATGATTAG
PV59	F: TTGAGTGAGCCCATATATTTTTCTC R: GTTGGTGTGGGAAGAGAGGA
PV176	F: GAGGAAAGAGAAAGCAACAGAGA R: AGTTTGAGGAGCAGGAGCAG
PVESTBR-6	F: TTTTGAGGATTGGGAATATTGG R: TCAAATGGACTCACGATTAAGTGC
PVESTBR-98	F: TCTTTAACAGCGCACACACTTT R: GTTGGAAAACGACAGTAGGAACC
X57022	F: AAGGATGGGTTCCGTGCTTG R: CACGGTACACGAAACCATGCTATC

esse flanqueamento, foi ser executado o BLAST das sequências *forward* e *reverse* de cada marcador microsatélite contra o genoma de referência da cultura (<https://phytozomenext.jgi.doe.gov/>) e inserção das sequências dos marcadores.

Tabela 1. Microssatélites caracterizados para feijão comum.

Após o BLAST dos marcadores, foi verificado se os genes foram flanqueados ou estavam perto fisicamente dos marcadores no genoma de feijoeiro. Concomitantemente, houve a descrição de cada um com base na sequência genômica, sequência CDS (*Coding DNA Sequence*), sequência do peptídeo, transcrito associado e a principal anotação gênica.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

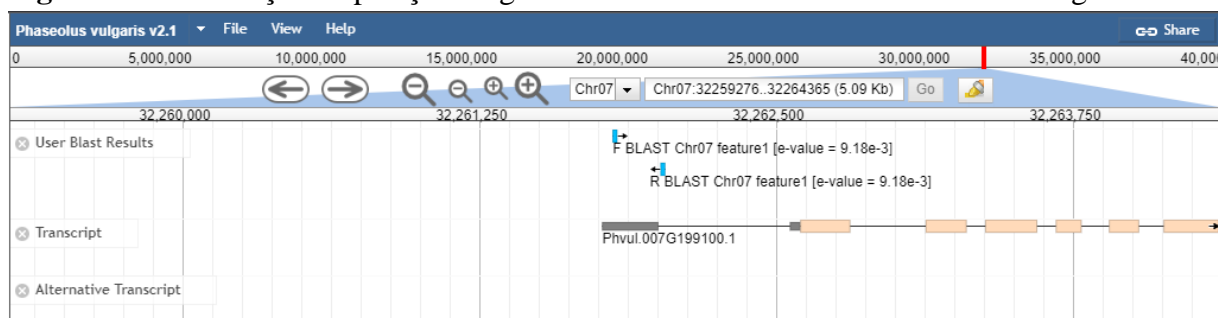
Dos marcadores microssatélites selecionados, PV35 e X57022 foram os únicos que demonstraram flanqueamento adequado nas regiões de interesse. Esse resultado implica a possibilidade de amplificação precisa das sequências-alvo durante análises genéticas em plantas. A capacidade de utilizar esses marcadores microssatélites de forma confiável pode abrir caminho para estudos mais aprofundados sobre variação genética, diversidade populacional e melhoramento de culturas de interesse agrônomo.

Diversas informações genéticas foram associadas aos genes, incluindo: sequência genômica (SG), sequência do transcrito (ST), sequência CDS (SCDS), sequência do peptídeo (SP) e função do gene (FG).

O marcador PV35 flanqueou o gene Phvul.007G199100, localizado no cromossomo 07 (Figura 2), com sequência genômica de tamanho de 3384pb (pares de bases), sequência do transcrito com 1980pb, sequência codificante com 1290pb e sequência do peptídeo com 430pb. Esse gene está associado a uma PROTEÍNA FOSFATASE 2C

Tabela 2. Informações genômicas do gene Phvul.007G199100.

Gene Phvul.007G199100	
SG	TCCGTGGTGCCTCCATCCACACTCACCCACTAGGGTTTATGATATTTTCTCCAAATGCTGAATCTTTCCATCTCCACTTTTCAACTGTAAGTAAATACTAAATTTATATTTGCATGCTGCCGTTTCAA GTTTAAACAATCGTTTTACCTTGTCAACTACGTGGTGGATAGTGAGAACAAAAGTTCTTTTCTCAATACATGTATCTGTGATACTCAGAGTCTGTTTTCTTAAAAATGCAGATTGGGTAAGGATTTTCCATC TAATACGAATTCTGGGACGTTTCGCTGTGCGGTTTGCCAAGCAGATCAACCCTCTGTAGATGGTTTATCAGTGAACACTGGGTCTTTTTTCTCTCCAGTATCTAAGCCATGGGAAGGTCCGC TCCTC GCACAACTGTCAGAAAGAAAGATGCCATGGAAGGAAAAAGGTCTAGCATGCCCTCAGAAACAGTATAGTAAACAGTATTGTAGTAACATAGTAAATATTGGTATAATTCTTCTCTGGCAGTGTGA GCATGCTTGCATAGTTGGGTGGTGATTGTCTAAGGTGTGTAAGAATGAGGTTGAGATAGCCAGATTAGGTCTATTGGAGGTTGTTGCAAGTTTGTCTTTGGTGTGTGTGCTCTGCTGTTGGACTGACAGA ACAAACAACGTTGCCCTGTAGATAACTTCTAATAGTTTGGTACTAACGGCTTGTAATAATGACAATTCATGGTTACCTCTTTGTAGAGTTGTCTACAACATTTGCAACGCTTTCATGTGTGACTG TAAGACAACAAGCTGATAATCTGTATAAAAAACAATTGAGATTGCGACCCATAATTTGCAATTCACCCTATTATTAATTAAGGATATTCCAG
ST	GAGGTTTACATTTAGGATGAAAACGTGATGATGAGGTGGTTCTCTCTACGCGTTCCCTCTGTCTAGAAACTTTCTCTACCAATCAAATAACAGAGCAAGCAAAATCTCTCCTTTCTCTCTCTCTCTC TCTCTCTCTCTCTCCGAGTCCGTGGTGCCTCCATCCACACTCACCCACTAGGGTTTATGATATTTTCTCCAAATGCTGAATCTTCCATCTCCACTTTTCAACTGATTTCTTCAGCGGGGTTCCAGAAATG TTGAATTTTGAACATAAGATGAGTAGGACTGATTCATCTAATATGAAGCAGCCGCCTGTCCCCTGGAACCCCTGATTGGCCGGGAGCTACGAAATGGAAAAATTGAAAAGCCTTTTGTGAAGTTTGGCC AAGCTGGCTTGGCAAAGAAAGGAGAAGATTATTTCTAATCAAGACGGATTACCAGAGAGTTTCTGGGGATTTCGTCAACACTTTTTCTGTCTTTGCGATCTTTGATGGGCATAATGGTATATCTGCTGC TATTTTTGCGAAGGAAAAACATACTAAGTAATGTTTTAAGTGCAATACCGCAAGATATCAGTAGAGATGAGTGGCTTCAAGCTCTGCCTCGTCTAGTTGTTGCTTTTGTGAAAAGTACATAGAGTTT CAGAAAAAAGGGGAACTTCTGGAACAACAGCCACATTTGTTCTGATTGATGGATGGACTGTTACCGTCGCGTCCGTTGGGGATTCCCGTGTGCATATTAGATACACAGGGAGGTGTTGTCTCTCTCTTGA CAGTTGATCACAGATTGGAAGAAAAATGTAGAAGAGAGGGAACGGATTACTGCCAGTGGTGGTGAAGTAGGAAGACTGAACGTTTTTGGAGGCAATGAGGTGGGGCCTCTTCGCTGCTGGCCTGGT GGA TTGTGCCTTTCTAGATCAATTGGTGACACAGATGTCGGAGAATTTATTGTGCCAATACCACACGTTAAGCAAGTGAAGCTTTCAAAGCTGGTGGAAAGACTTATTATTGCTTCTGATGGCATTGGGATG CTTTATCTTCTGATATGGCTGCCAAGTCATGCCGGGGTCTACCTGCAGAGCTTGTGCAAAAGCTGGTGGTTAAGGAAGCTCTAAGGTCAAGGGGGCTGAAGGATGATACAACCTGCCTCGTTGTAGATAT TATTCGTCAGATCATCTGTATTACCAACAATTCCAACAAAGAAGCATAATATGCTAACTTCCCTTTTATTGGAAAGAAATCTAAAAACTCTACAAACAAAAGTACCAATAAGCTTCTGCTGTAGGT GTTGTGGAGGAATTTTGAAGAGGGTTCTGCTATGCTTACCGAGAGATTGGGTAAGGATTTTCCATCTAATACGAATTCTGGGACGTTTCGCTGTGCGGTTTGGCAAGCAGATCAACCCTCTGTAGATG GTTTATCAGTGAACACTGGGTCCTTTTTTCTCCTCCAGTATCTAAGCCATGGGAAGGTCCGCTCCTCTGCACAACTGTGAGAAGAAGAAAGATGCCATGGAAGGAAAAAGGTCTAGCATGCCCTCAG AAACAGTATAGTAAACAGTATTGTAGTAACATAGTAAATATTGGTATAATTCTTCTCTGGCAGTGTGAGCATGCTTGCATAGTTGGGTGGTATTGTCTAAGGTGTGTAAGAATGAGGTTGAGATAGCCA GATTAGGTCTATTGGAGGTTGTTGCAAGTTTGTCTTTGGTGTGTGTGCTCTGCTGTTGGACTGACAGAACAACAACGTTGCCCTGTTAGATAACTTCTAATAGTTTGGTACTAACGGCTTGTAATAAAA TGACAATTTTCATGGTTACCTCTTTGTAGAGTTGTCTACAACATTTTGAACGTTTCATGTGTGACTGTAAGACAACAAGCTGATAATCTGTATAAAAAACAATTGAGATTGCGACCCATAATTTGCAATTC ACCCTATTATTAATTAAGGATATTCCAG
SCD S	ATGAGTAGGACTGATTTCATCTAATATGAAGCAGCCGCCTGTCCCCTGGAACCCCTGATTGGCCGGGAGCTACGAAATGGAAAAATTGAAAAGCCTTTTGTGAAGTTTGGCCAAGCTGGCTTGGC AAAG AAAGGAGAAGATTATTTCTAATCAAGACGGATTACCAGAGAGTTCTGGGGATTTCGTCAACACTTTTTTCTGTCTTTGCGATCTTTGATGGGCATAATGGTATATCTGCTGCTATTTTTCGAAAGGAAAA CATACTAAGTAATGTTTTAAGTGCAATACCGCAAGATATCAGTAGAGATGAGTGGCTTCAAGCTCTGCCTCGTCTAGTTGTTGCTTTTGTGAAAAGTACATAGAGTTTCAGAAAAAAGGGGAACT TCTGGAACAACAGCCACATTTGTTCTGATTGATGGATGGACTGTTACCGTCGCGTCCGTTGGGGATTCCCGTGTGCATATTAGATACACAGGGAGGTGTTGTCTCTCTTGTACAGTTGATCACAGATTGGA AGAAAAATGTAGAAGAGAGGGAACGGATTACTGCCAGTGGTGGTGAAGTAGGAAGACTGAACGTTTTTGGAGGCAATGAGGTGGGGCCTCTTCGCTGCTGGCCTGGTGGATTGTGCCTTTCTAGATCAAT TGGTGACACAGATGTCGGAGAATTTATTGTGCCAATACCACACGTTAAGCAAGTGAAGCTTTCAAAGCTGGTGGAAAGACTTATTATTGCTTCTGATGGCATTGGGATGCTTTATCTTCTGATATGGCT GCCAAGTCATGCCGGGGTCTACCTGCAGAGCTTGTGCAAAAGCTGGTGGTTAAGGAAGCTCTAAGGTCAAGGGGGCTGAAGGATGATACAACCTGCCTCGTTGTAGATATTATCCGTCAGATCA TCCT GTATTACCAACAATTCCAACAAAGAAGCATAATATGCTAACTTCCCTTTTATTGGAAAGAAATCTAAAAACTCTACAAACAAAAGTACCAATAAGCTTTCTGCTGTAGGTGTTGTGGAGGAATTATTTG AAGAGGGTCTGCTATGCTTACCGAGAGATTGGGTAAGGATTTTCCATCTAATACGAATTCTGGGACGTTTCGCTGTGCGGTTTGGCAAGCAGATCAACCCTCTGTAGATGGTTTATCAGTGAACACTGG GTCCTTTTTTCTCCTCCAGTATCTAAGCCATGGGAAGGTCCGCTCCTCTGCACAACTGTCAGAAAGAAAGATGCCATGGAAGGAAAAAGGTCTAGCATGCCCTCAGAAACAGTATAG
SP	RCILDTQGGVVSLLTVDHRLLEENVEERERITASGGEVGRNLNVFGGNEVGPLRCWPGLCLRSIGDTDVGEFIVPIPHVKQVKLSKAGGRLLIASDGIWDALSSDMAAKSCRGLPAELAAKL VVK EALRSRGLKD DTTCLVVDIIPSDHPVLPITPKKHNLTSLLFGKSKNSTNKSTNKL SAVGVVEELFEEGSAMLTERLGKDFPSNTGTFRCAVCQADQPSVDGLSVNTGSFFSPVPVSKPWEGLPLCTNCQKKK DAMEGRKSSMP SETV *
FG	expressed protein (fosfatase)

Figura 2. Identificação da posição do gene Phvul.007G199100 no banco de dados genômicos

A proteína fosfatase 2C (PP2C) desempenha um papel crucial na regulação de várias vias de sinalização em plantas. Ela é conhecida por sua capacidade de desfosforilar proteínas alvos, controlando assim a atividade e a resposta das plantas a diferentes estímulos ambientais e fisiológicos. Uma crescente quantidade de pesquisas tem contribuído na identificação das múltiplas funções da PP2C em plantas. Um estudo realizado por (WANG *et al.* 2015) investigou a função da PP2C em resposta à privação de fósforo em *Arabidopsis thaliana*. Os resultados demonstraram que a proteína fosfatase 2C controla a regulação da resposta adaptativa das plantas à deficiência de fósforo, atuando como um regulador-chave do crescimento radicular, da absorção de fósforo e da alocação de recursos.

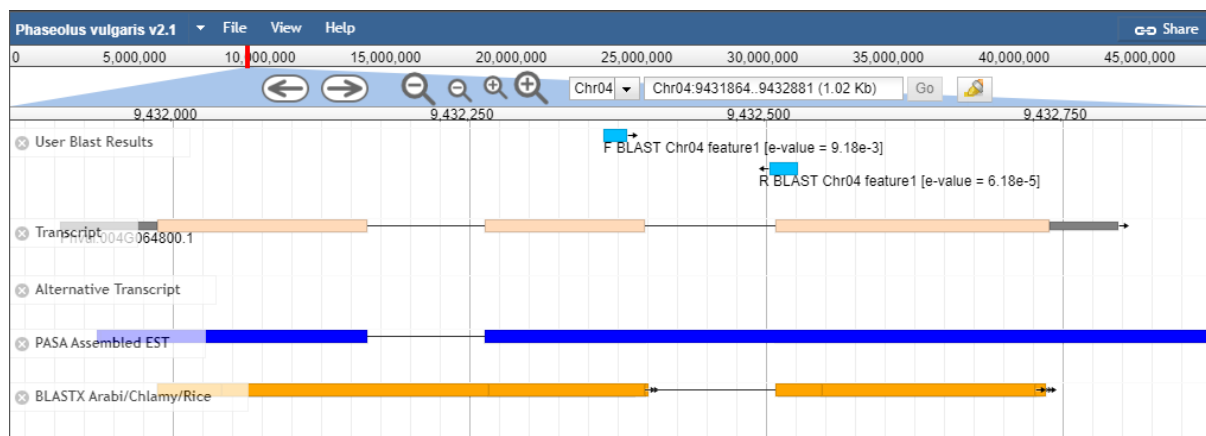
Outro estudo relevante foi conduzido por (LI *et al.* 2017), que investigou o papel da proteína fosfatase 2C na tolerância ao estresse abiótico em plantas. Os pesquisadores descobriram que a PP2C está envolvida na regulação da resposta a estresses como seca, salinidade e alta temperatura. Além disso, a PP2C também atua na modulação de fatores de transcrição e genes relacionados ao estresse, afirmando seu papel como regulador da resposta adaptativa das plantas. Outro estudo interessante foi realizado por (ZHANG *et al.* 2020), que investigou a função da PP2C no controle do desenvolvimento vegetativo em *Arabidopsis*. Os pesquisadores descobriram que diferentes isoformas de PP2C têm funções específicas na regulação do crescimento e da morfologia das plantas. Eles observaram que a inibição seletiva de certas isoformas de PP2C resultou em alterações no tamanho das folhas, no comprimento do caule e na arquitetura radicular (SCHWEIGHOFER *et al.*, 2004). Esses estudos destacam a importância da proteína fosfatase 2C na regulação de múltiplos processos fisiológicos e de resposta ao estresse em plantas (KUHN *et al.*, 2006). A identificação e caracterização das diferentes isoformas de PP2C em várias espécies de plantas também são áreas de pesquisa em andamento, visando entender melhor sua função e mecanismos de regulação (MEYER *et al.*, 2012).

O marcador X57022 flanqueou o gene Phvul.004G064800, localizado no cromossomo 04 (Figura 1), com sequência genômica de tamanho de 892pb (pares de bases), sequência do transcrito com 683pb, sequência codificante com 543pb e sequência do peptídeo com 181pb. Esse gene está associado a proteína Ribulose-1, 5 bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCo).

Tabela 3. Informações genômicas do gene Phvul.004G064800

Gene Phvul.004G064800	
S G	ATATAAAGCAAGTAGGAGCAGAAGCTTGGGCATCTAGCAGCAGAACAGCAAGTGA TTCAGAAGTAAGAAGAAGAAGAAGGAAATGGCTTCTTCAATGATCTCCTCCCCCGC TGTGACGACCGTTAACCGTGCCGGTGCCGGTGCCGGTATGGTGGCTCCTTTCCTGG GCTGAAGTCCCTGGGAGGGTTCCCAAGCAGGAAGATGAACAATGATATTACTTCCG TTGCGAACAACGGTGGAAGAGTGCAATGCATTTCAGGTAAAGAGAAGATATTTATGTG ATAGGAAAATGTGAAGATTTGGAAGTTGGTTGGTTAGTTAGTTTGTAACTGAATTA TGATGGAAATGAAATGAGTAGGTGTGGCCAACAGTTGGGAAGAAGAAGTTCGAGA CTCTTTCGTACCTGCCACCCCTGACAAAAGAACAATTGGCAAAGGAAGTAGACTAC CTTCTTCGGAAAGGATGGGTTCCGTGCTTGGAAATTCGAATTGGAGGTGAATTTGTG AATTGAATTGAAAGGGTTATTATGGTTAATTTATGAATGAATGAATGAATGAATGA ATGATGTTGATGTTTGTGTTTGTGTTGATGTTGATGTGTGTTGATAGCATGGTTTCGTGTACC GTGAACACAACAAGTCACCTGGATACTATGATGGAAGGTACTGGACGATGTGGAAG CTGCCTATGTTTGGGTGCACTGATTCTTCTCAGGTGTTGAAGGAGCTTTACGAGGCT CAGACTGCTCATCCCGATGGTTTCATCCGTATCATTGGATTTGACAACGTTTCGTCAA GTGCAGTGCATCAGTTTCATTGCCTACAAGCCACCAGGCTACTAAGTCTCCAAAATT TCCCACTTTGTTTGTGTTGTACTTAAACCAAACCTTTCATTTGTTTTT
S T	ATATAAAGCAAGTAGGAGCAGAAGCTTGGGCATCTAGCAGCAGAACAGCAAGTGA TTCAGAAGTAAGAAGAAGAAGAAGGAAATGGCTTCTTCAATGATCTCCTCCCCCGC TGTGACGACCGTTAACCGTGCCGGTGCCGGTGCCGGTATGGTGGCTCCTTTCCTGG GCTGAAGTCCCTGGGAGGGTTCCCAAGCAGGAAGATGAACAATGATATTACTTCCG TTGCGAACAACGGTGGAAGAGTGCAATGCATTTCAGGTGTGGCCAACAGTTGGGAAG AAGAAGTTCGAGACTCTTTCGTACCTGCCACCCCTGACAAAAGAACAATTGGCAAA GGAAGTAGACTACCTTCTTCGGAAAGGATGGGTTCCGTGCTTGGAAATTCGAATTGG AGCATGGTTTCGTGTACCGTGAACACAACAAGTCACCTGGATACTATGATGGAAGG TACTGGACGATGTGGAAGCTGCCTATGTTTGGGTGCACTGATTCTTCTCAGGTGTTG AAGGAGCTTTACGAGGCTCAGACTGCTCATCCCGATGGTTTCATCCGTATCATTGGA TTTGACAACGTTTCGTCAAGTGCAGTGCATCAGTTTCATTGCCTACAAGCCACCAGGC TACTAAGTCTCCAAAATTTCCCACTTTGTTTGTGTTGTACTTAAACCAAACCTTTCATT GTTTTT
S C D S	TTGGGAAGAAGAAGTTCGAGACTCTTTCGTACCTGCCACCCCTGACAAAAGAACAA TTGGCAAAGGAAGTAGACTACCTTCTTCGGAAAGGATGGGTTCCGTGCTTGGAAAT CGAATTGGAGCATGGTTTCGTGTACCGTGAACACAACAAGTCACCTGGATACTATG ATGGAAGGTACTGGACGATGTGGAAGCTGCCTATGTTTGGGTGCACTGATTCTTCTC AGGTGTTGAAGGAGCTTTACGAGGCTCAGACTGCTCATCCCGATGGTTTCATCCGTA TCATTGGATTTGACAACGTTTCGTCAAGTGCAGTGCATCAGTTTCATTGCCTACAAGC CACCAGGCTACTAA
S P	VRQVQCISFIAYKPPGY *
F G	expressed protein (rubisco)

Figura 3. Identificação da posição do gene Phvul.004G064800 no banco de dados genômicos.



A Ribulose-1, 5 bifosfato carboxilase/oxigenasse (RuBisCO) é uma enzima essencial para o processo de fotossíntese em plantas. Ela catalisa a incorporação do dióxido de carbono (CO₂) durante a fase escura do ciclo de Calvin-Benson, convertendo-o em moléculas orgânicas.

Estudo relevante, que investigaram as modificações pós-traducionais da RuBisCO em plantas. Foi constatado que a fosforilação da subunidade pequena de RuBisCO pode afetar sua atividade e regulação em resposta a diferentes condições ambientais, como luz e estresse abiótico (KANNO *et al.* 2017). Além disso, analisou a diversidade genética da subunidade pequena de RuBisCO em diferentes espécies de plantas (WHITNEY *et al.* 2011). Os pesquisadores descobriram que existem diferentes isoformas da subunidade pequena de RuBisCO, que podem variar em sua eficiência e especificidade na fixação de carbono. Esses estudos demonstram a importância da RuBisCO na fotossíntese e seu papel fundamental na fixação de carbono em plantas (ANDERSON, 2008). A compreensão da estrutura, função e regulação da enzima tem sido um foco contínuo de pesquisa, na busca de melhorar a eficiência fotossintética e a produtividade das plantas cultivadas (SPREITZER *et al.* 2002)

6 CONCLUSÃO

Dos seis marcadores microsatélites selecionados, PV35 e X57022 destacaram-se, indicando potencial para estudos genéticos mais aprofundados. O gene Phvul.007G199100, associado ao marcador PV35, foi caracterizado como um gene que codifica uma proteína fosfatase 2C (PP2C), conhecida por seu papel na regulação de respostas a estresses ambientais.

Esses resultados oferecem dados valiosos para o melhoramento genético do feijoeiro, proporcionando uma base genética para características agronômicas específicas. A compreensão desses genes e marcadores pode orientar estratégias eficientes de seleção, contribuindo para o aumento da produção agrícola de maneira sustentável aliada com os avanços na agricultura moderna.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, C.; PEDROSA-HARAND, A. High macro-collinearity between lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.) as revealed by comparative cytogenetic mapping. **Theor Appl Genet**, v. 126, p. 1909-1916, 2013.
- ANDERSSON, I. (2008). Catalysis and regulation in Rubisco. **Journal of Experimental Botany**, 59(7), 1555-1568.
- BARBOSA, F.R.; GONZAGA, A.C.O. **Informações Técnicas para o Cultivo do Feijoeiro Comum na Região Central-brasileira: 2012-2014**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA. 247p, 2012.
- BHARGAVA, A.; FUENTES, F.F. Mutational dynamics of microsatellites. **Mol. Biotechnol**, v. 44, p. 250- 266, 2010.
- BONETT, L.P.; GONÇALVES-VIDIGAL, M.C.; SCHUELTER, A.R.; VIDIGAL FILHO, P.S.; GONELA, A.; LACANALLO, G.F. Divergência genética em germoplasma de feijoeiro comum coletado no Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, p.547-560, 2006.
- COUTO, K. R. *et al.* Identificação de marcadores microssatélites relacionados ao escurecimento de grãos em feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.11, p.1268-1274, 2010.
- EMBRAPA. **Dados conjunturais da produção, produtividade e área cultivada do arroz e do feijão-comum do Brasil**. Disponível em: <<https://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>>. Acesso em : 25 de maio de 2023.
- FAOSTAT. Crops. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 20 de maio de 2023.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. EMBRAPA/CENARGEN, Brasília, 3. ed. 220p. 1998.
- IBGE. **POF 2017-2018: Brasileiro ainda mantém dieta à base de arroz e feijão, mas consumo de frutas e legumes é abaixo do esperado**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/28646-pof-2017-2018-brasileiro-ainda-mantem-dieta-a-base-de-arroz-e-feijao-mas-consumo-de-frutas-e-legumes-e-abaixo-do-esperado#:~:text=Os%20alimentos%20com%20maiores%20m%C3%A9dias,%2C1%20g%20Fdia>>. Acessado em 25 mai. 2023.
- Kanno, Z., Hirai, M. Y., & Aoki, K. **The functional analysis of plant RuBisCO: progress, challenges, and prospects**. *Plant & Cell Physiology*, 58(9), 1480-1487. 2017
- KUHN, J. M., BOISSON-DERNIER, A., DIZON, M. B., MAKTABI, M. H., & SCHROEDER, J. I. (2006). The protein phosphatase AtPP2C-1 interacts with the Arabidopsis ABA sensor RCAR1 and negatively regulates stomatal closure. **Current Biology**, 16(11), 1201-1208.

LI, Y., SHEN, J., & CHEN, H. **Plant response to drought and rewatering**. *Plant Signaling & Behavior*, 12(9), e1369923. 2017

MELO, L.C.; SANTOS, P.G.; FARIA, L.C. de; DIAZ, J.L.C.; DEL PELOSO, M.J.; RAVA, C.A.; COSTA, J.G.C. da. Interação com ambientes e estabilidade de genótipos de feijoeiro-comum na Região Centro Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.715-723, 2007.

MENDES, F. F. *et al.* Índice de seleção para escolha de populações segregantes de feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.10, p.1312-1318, 2009.

MEYER, K., LEUBE, M. P., & GRILL, E. (2012). A protein phosphatase 2C involved in ABA signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. **Science**, 264(5164), 1452-1455.

MORDOR INTELLIGENCE/EMIS - ISI Emerging Markets Group Company. **Global Dry Beans Market (2020-2025)**. Disponível em <<https://www.emis.com/pt>>. Acesso em: 18 de maio de 2023.

MOURA A. D.; BRITO, L. M. Aspectos Socioeconômicos. In: CARNEIRO, J. E.; PAULA JUNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed). **Feijão do Plantio a Colheita**. Viçosa-MG: UFV, 2015.16-36p, 2015.

OTUBO, S. T.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Genetic control of low temperature tolerance in germination of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, v. 89, n. 3, p. 313-317, 1995.

PEREIRA, H. S. *et al.* Seleção fenotípica e assistida por marcadores moleculares de famílias de feijoeiro-comum com alta produtividade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.43, n.11, p.1551-1558, nov. 2008.

PEREIRA, H.S.; SANTOS, J.B. dos; ABREU, A. de F.B.; COUTO, K.R. Informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.707-71. 2007.

RAI, V.P.; KUMAR, R.; KUMAR, S.; RAI, A., KUMAR, S.; SINGH, M.; SINGH, S.P.; RAI, A.B. Genetic diversity in *Capsicum* germplasm based on microsatellite and random amplified microsatellite polymorphism markers. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, p. 575- 586, 2013.

ROSOLEM, C. A.; BOARETTO, A. E.; NAKAGAWA, J. **Adubação foliar do feijoeiro**. VIII. Fontes e doses de cálcio. Científica, São Paulo, v.18, p.81-86, 1990.

SANTOS, J. B. **Controle genético de caracteres agronômicos e potencialidades de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) para o melhoramento genético** 1984. 223 f. Tese (Doutorado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1984.

SANTOS, P. S. *et al.* Caracterização molecular de germoplasma de patchouli (*Pogostemon* sp.) por marcadores RAPD. **Scientia Plena**, v. 9, n. 5, p. 1-7, 2013.

SCHWEIGHOFER, A., HIRT, H., & MESKIENE, I. (2004). Plant PP2C phosphatases: emerging functions in stress signaling. **Trends in Plant Science**, 9(5), 236-243.

SHARKEY, T. D., WIBERLEY, A. E., & DONOHUE, A. R. **Is it useful to ask why plants have Rubisco?** Plant, Cell & Environment, 39(4), 862-875.2016

SPREITZER, R. J., & SALVUCCI, M. E. (2002). Rubisco: Structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme. **Annual Review of Plant Biology**, 53(1), 449-475.

TEIXEIRA, F. F.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Genetic control of plant architecture in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 22, n. 4, p. 577-582, Dec. 1999.

TSUTSUMI, C. Y. et al. **Melhoramento genético do feijoeiro: avanços, perspectivas e novos estudos, no âmbito nacional.** Nativa, V. 03, n. 03, p. 217-223, 2015.

VOYSEST, V. O. **Mejoramento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): legado de variedades de América Latina 1930-1999.** Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 2000. 195 p.

WANG, X., IRIGOYEN, S., & YANG. **S.Phosphate transport in plants: what's new?** Plant Signaling & Behavior, 10(11), e1086265. 2015

WHITNEY, S. M., BIRCH, R., KELSO, C., & BECK, J. L. **Genetic modulation of Rubisco conformational diversity in *Arabidopsis thaliana*.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 108(41), 17144-17149. 2011

ZHANG, J., JIANG, L., & WANG, D. **The protein phosphatase 2C–phosphatase and tensin homolog–regulatory protein kinase 1 loop mediates lateral root development under drought in *Arabidopsis*.** The Plant Cell, 32(9), 2583-2601. 2020